

Dissertação | Revisão Bibliográfica

Hipoplasia tímica em crianças com Síndrome de Down

Hipoplasia tímica em crianças com Síndrome de Down, um possível contributo para o defeito intrínseco do sistema imune

ESTUDANTE

Bárbara Monteiro Marinho
Estudante do 6º ano do Mestrado Integrado em Medicina
Nº aluno: 201002415
Endereço eletrónico: barbamarinho_12@hotmail.com

ORIENTADOR

Nome completo: Margarida Maria dos Santos Guedes Carolino
Grau académico: Professor Convidado de Pediatria do MIM do ICBAS/HGSA-CHP
Título profissional: Assistente Graduada de Pediatria do HGSA-CHP

AFILIAÇÃO

Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar – Universidade do Porto
Rua de Jorge Viterbo Ferreira nº 228, 4050-313 Porto, Portugal

AGRADECIMENTOS

Expresso aqui o meu agradecimento sincero à Dra. Margarida Maria dos Santos Guedes Carolino, pela generosidade em aceitar a orientação científica deste trabalho, pelo apoio, disponibilidade, pelas suas valiosas contribuições e pela total colaboração no solucionar de dúvidas e problemas que foram surgindo ao longo da sua realização. Agradeço, acima de tudo, por estimular o meu interesse pelo tema e por me ter acompanhado nesta jornada.

ÍNDICE

Lista de abreviaturas.....	3
Índice de figuras	3
Índice de tabelas.....	4
Resumo	5
Abstract	6
Objetivo	7
Materiais e Métodos	7
Introdução	8
Apresentação clínica em relação à imunodeficiência.....	9
Morbilidade aumentada devida a infecções recorrentes.....	10
Infecções do trato respiratório	10
Curso prolongado das infecções respiratórias	11
Defeitos imunes nos sujeitos com Síndrome de Down	12
Imunidade Adaptativa	12
Timo e linfócitos T	13
Linfócitos B e produção de anticorpos	16
Imunidade inata e células <i>natural killer</i>	18
Síndrome de Down: imunodeficiência primária e secundária	21
Fatores não imunológicos que aumentam o risco de infecções	22
Anormalidades anatómicas da via aérea.....	23
Apneia Obstrutiva do Sono	23
Refluxo gastroesofágico e aspiração orofaríngea.....	23
Anomalias congênitas do ouvido	24
Parâmetros hematológicos nas crianças com Síndrome de Down	24
Discussão	26
Referências Bibliográficas.....	30

Lista de abreviaturas

AIRE – Autoimmune Regulator
ARDS – Acute Respiratory Distress Syndrome
DNA – Deoxyribonucleic Acid
DS – Down's Syndrome
ICAM-1 – Intercellular Adhesion Molecule 1
ICU – Intensive Care Unit
LFA-1 – Lymphocyte Function-associated Antigen 1
LPS – Lipopolysaccharide
MHC – Major Histocompatibility Complex
NFAT – Nuclear Factor of Activated T-cells
NK – Natural Killer
PHA – Phytohaemagglutinin
RCAN-1 – Regulator of Calcineurin 1
RNA – Ribonucleic Acid
RSV – Respiratory Syncytial Virus
RTI – Respiratory Tract Infection
SOD – Superoxide Dismutase
TCR – T Cell Receptor
TRA – Tissue-restricted Antigen
TREC – T-Cell Receptor Excision Circles

Índice de figuras

Figura 1 – Fatores imunológicos e não-imunológicos selecionados que potencialmente aumentam a suscetibilidade a infecções na síndrome de Down (pág. 10)

Figura 2 – Exemplo representativo de PCR em tempo real para a quantificação de TREC num grupo de crianças com síndrome de Down e seus controlos saudáveis (pág. 15)

Figura 3 – Crianças com síndrome de Down têm menos linfócitos TREC⁺ do que os seus controlos saudáveis (pág. 15)

Figura 4 – Correlação entre a idade e os níveis TREC em crianças com síndrome de Down (quadrados) e seus controlos (triângulos) (pág. 16)

Índice de tabelas

Tabela 1 – Visão geral das diferenças relevantes para os cuidados clínicos diários encontradas entre os sistemas imunes de indivíduos com e sem síndrome de Down desde os anos 70 (pág. 21)

Resumo

A Síndrome de Down é a doença genética mais comum e apresenta-se com comprometimento cognitivo, anomalias cardíacas e gastrointestinais, em adição com outras condições clínicas diversas. O sistema neurológico parece sofrer um envelhecimento acelerado, com ocorrência precoce da doença de Alzheimer. As crianças com síndrome de Down são mais propensas a desenvolver infecções, usualmente do trato respiratório, caracterizadas por severidade aumentada e curso prolongado da doença, o que é parcialmente atribuído a defeitos do sistema imune.

As anomalias do sistema imune associadas à síndrome incluem: média a moderada linfopenia das células T e B, com marcado decréscimo dos linfócitos *naïve*; proliferação das células T induzida por mitogénio comprometida; respostas a imunizações anticorpo-específicas reduzidas e defeitos na quimiotaxia dos neutrófilos. Têm também sido desenvolvidos estudos que determinam a produção de citocinas em crianças com síndrome de Down após a estimulação com determinados patógenos, bem como com o objetivo de avaliar os níveis de imunoglobulinas nestas crianças e correlacioná-los com a ocorrência de infecções do trato respiratório inferior.

A evidência limitada de anomalias na resposta imune secundárias à trissomia do cromossoma 21 está também disponível como uma das potenciais consequências da sobreexpressão génica. A imunodeficiência secundária devida a fatores metabólicos ou nutricionais, particularmente a deficiência em zinco, tem sido igualmente postulada.

Apesar de os estudos até então realizados sugerirem um sistema imune intrinsecamente deficiente, fatores não imunológicos, incluindo estruturas anatómicas anormais e refluxo-gastroesofágico, podem desempenhar um papel no aumento da frequência de infecções nestes indivíduos. Os mecanismos moleculares que levam aos defeitos imunes observados na síndrome e a contribuição dessas anomalias imunológicas para o aumento do risco de infecções requer investigação adicional. A abordagem dos fatores imunológicos e não-imunológicos envolvidos na patogénese de doenças infecciosas pode reduzir a suscetibilidade a infecções em crianças com síndrome de Down.

Palavras chave: síndrome de Down, imunodeficiência, sistema imune comprometido, níveis de imunoglobulinas, resposta de anticorpos, infecções do trato respiratório

Abstract

Down syndrome is the most common genetic disease and presents with cognitive impairment, cardiac and gastrointestinal abnormalities, in addition to other miscellaneous clinical conditions. The neurological system appears to suffer accelerated ageing, with early occurrence of Alzheimer disease. Children with Down's syndrome are more prone to develop infections, usually of the respiratory tract, characterized by increased severity and prolonged course of disease, which are partially attributed to defects of the immune system.

The abnormalities of the immune system associated with the syndrome include: mild to moderate T and B cell lymphopenia, with marked decrease of naive lymphocytes; impaired mitogen-induced T cell proliferation; reduced specific antibody responses to immunizations and defects of neutrophil chemotaxis. Studies in order to determine the cytokine production in children with DS after stimulation with certain pathogens have also been developed, as well as in order to evaluate the immunoglobulin levels in these children and correlate it with the occurrence of respiratory tract infections among them.

Limited evidence of abnormalities in immune response secondary to trisomy of chromosome 21 is also available as one of the potential consequences of gene over-expression. Secondary immunodeficiency due to metabolic or nutritional factors, particularly zinc deficiency, has been equally postulated.

Despite the studies so far suggest an immune system intrinsically deficient, non-immunological factors, including abnormal anatomical structures and gastro-oesophageal reflux, may play a role in the increased frequency of infections in these individuals. The molecular mechanisms leading to the immune defects observed in the syndrome and the contribution of these immunological abnormalities to the increased risk of infections require further investigation. Addressing immunological and non-immunological factors involved in the pathogenesis of infectious diseases may reduce the susceptibility to infections in children with Down's syndrome.

Key words: Down's syndrome, immunodeficiency, impaired immune system, immunoglobulin levels, antibody response, respiratory tract infections

Objetivo

Com esta dissertação proponho-me fazer uma revisão exaustiva da bibliografia indexada publicada, com o intuito de obter resultados que permitam estabelecer uma conclusão uniformizada, clarificadora e pertinente sobre as alterações imunológicas na síndrome de Down que levam ao aumento da suscetibilidade a infecções e fenótipo auto-imune, bem como sobre as alterações morfológicas e funcionais tímicas passíveis de explicar a resposta imune debilitada que se observa nos indivíduos com a síndrome.

Materiais e Métodos

O material bibliográfico utilizado para a realização deste artigo de revisão foi obtido através de uma pesquisa efetuada nas bases de dados electrónicas PubMed e The Journal of Immunology. Os termos usados para a pesquisa foram essencialmente “immunological changes in Down’s syndrome” e “thymic deficiency in Down's syndrome”.

Avaliei o título e o resumo dos estudos encontrados na pesquisa inicial quanto à sua potencial elegibilidade de seleção. Artigos adicionais correspondendo a outras investigações relevantes foram selecionados das referências destas publicações e incluídos na presente revisão.

Introdução

A Síndrome de Down, causada pela trissomia do cromossoma 21, é a mais frequente causa genética de perturbação cognitiva no homem, com uma incidência de aproximadamente 1 em 750 nascimentos. Assim, os clínicos deparam-se frequentemente com doentes com DS e com os seus complexos problemas médicos. Para além das características faciais típicas, hipotonia, anomalias cardíacas congénitas, cataratas, anomalias do trato gastrointestinal e ortopédicas e dos problemas oculares e auditivos, a síndrome está claramente associada a disfunções imunológicas, como o aumento da frequência de infeções ou doenças autoimunes. (1, 2)

De entre os fenómenos autoimunes destacam-se o hipotiroidismo adquirido, o hipertiroidismo, a doença celíaca, a diabetes mellitus e a alopecia. Estima-se ainda que a leucemia seja 15 a 20 vezes mais frequente nestes doentes. (3-5) Assim, é de salientar que apesar dos avanços no tratamento, as infeções - especialmente a pneumonia - e a leucemia continuam a ser as principais causas de morbilidade e mortalidade nos indivíduos com a síndrome. (6, 7)

A frequência aumentada de malignidades hematológicas, doenças autoimunes e infeções na DS, já levou, desde os anos 70, que se colocasse a possibilidade de a síndrome se encontrar associada a anomalias do sistema imune. (8, 9) De facto, muitas diferenças entre o sistema imune de indivíduos com e sem DS têm sido encontradas através dos anos, levando à formulação de várias hipóteses, com potenciais implicações nos cuidados clínicos destes doentes.

Uma vez que taxas elevadas de infeções, malignidades e fenómenos autoimunes são normalmente observadas em indivíduos idosos, foi colocada a hipótese de a DS constituir uma forma anormal de envelhecimento precoce. (10) Em adição, estudos histopatológicos revelam um cérebro pequeno e hipocelular e, pela 4ª década, achados característicos da doença de Alzheimer.

Apresentação clínica em relação à imunodeficiência

A apresentação clínica em crianças com DS, em relação à possível imunodeficiência, é dominada por infecções recorrentes das vias aéreas na infância, seguidas de um aumento da frequência de doenças auto-imunes e linfoproliferação (11). Os fenómenos auto-imunes, incluindo o hipotireoidismo (12) e a doença celíaca (13), e as anormalidades hematológicas como a leucemia linfoblástica aguda e a doença mieloproliferativa transitória, ocorrem com uma frequência muito superior em comparação com indivíduos sem a síndrome (3).

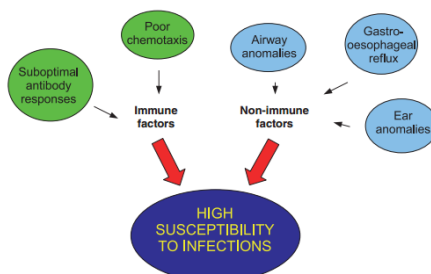
É, contudo, de salientar que apesar de crianças com DS poderem apresentar sintomas de rinite crónica e doença reativa da via aérea, o que sugere hipersensibilidade a alérgenos inalados, estudos que compararam a positividade de testes de hipersensibilidade subcutânea de crianças com DS sintomáticas e controlos para a idade, descobriam que 18% dos casos tinham pelo menos um alérgeno positivo no teste cutâneo, o que contrasta com 54% dos controlos sem DS (14). Assim, os autores concluem que a sensibilização alérgica não é um contributo major para a doença respiratória nas crianças com a síndrome, não sendo a alergia altamente prevalente na DS. Verstegen *et al.* (15) encontraram apenas 6 em 44 doentes com DS com IgE elevada e nenhum dos 28 indivíduos com DS testados apresentou um alérgeno identificado como *trigger* para sintomas alérgicos.

Um dos mais significativos problemas de saúde em crianças com DS em idade escolar, identificado pelos pais, são as infecções do trato respiratório, particularmente a otite média, que ocorrem com uma frequência superior à da população em geral (16). Esta suscetibilidade aumentada tem sido atribuída a anormais parâmetros do sistema imune (9) e a DS é a mais comum síndrome genética associada a defeitos imunes (17). Estas infecções frequentes podem ser explicadas pela deficiência em anticorpos, apesar da macroglossia, hipotonia e anatomia alterada das vias aéreas superiores desempenharem também um importante papel. A tendência para doenças auto-imunes e linfoproliferação, por outro lado, aponta primariamente para imunodesregulação (18). A redução parcial no número e na função de linfócitos T pode perturbar o balanço tolerogénico gerando uma combinação de imunodeficiência e desregulação imune. As crianças com DS enquanto grupo podem encaixar no quadro de imunodeficiência primária mas com aparentes diferenças individuais (19, 20).

Apesar de múltiplas diferenças entre o sistema imune de indivíduos com DS e o da população geral terem sido descritas, a sua relevância clínica é menos clara. Variadas co-

morbilidades médicas e anatómicas associadas frequentemente à síndrome aumentam a suscetibilidade a infecções e podem também afetar as respostas imunes (fig. 1).

Figura 1 – Fatores imunológicos e não-imunológicos selecionados que potencialmente aumentam a suscetibilidade a infecções na síndrome de Down



Morbilidade aumentada devida a infecções recorrentes

Infecções do trato respiratório

É largamente aceite que crianças com DS sofrem de infecções mais frequentes do que as outras crianças e a maioria dos estudos concorda que essas afetam predominantemente o trato respiratório. Hilton *et al.* (21) avaliaram 232 admissões hospitalares entre crianças com DS durante um período de 6,5 anos e descobriram que a patologia do trato respiratório inferior foi a causa mais comum de admissão hospitalar aguda. Achado que contrastou com as crianças sem a síndrome, mais frequentemente admitidas por crise de asma, administração de quimioterapia, fraturas, gastroenterite, bronquiolite e adenotonsilectomia. Com base nos grupos etários, a percentagem mais elevada de admissões neste estudo foi em crianças com idade compreendida entre os 1 e os 5 anos (45%), seguida pela das crianças com menos de 1 ano de idade (27%). Ambos os grupos etários 5-10 e 10-17 anos tiveram a mesma taxa de admissões hospitalares (cada grupo 14%). Foi observado que 54% de todas as admissões hospitalares foram por patologia do trato respiratório, incluindo pneumonia (18%), bronquiolite (7%) e laringotraqueíte (6,5%). O diagnóstico predominante de admissão na unidade de cuidados intensivos foi o de pneumonia. Curiosamente, co-morbilidades como doença cardíaca congénita e asma não influenciaram as taxas de admissão hospitalares.

Outros estudos têm demonstrado que a síndrome, por si só, é um fator de risco independente para o desenvolvimento de bronquiolite pelo vírus sincial respiratório.

Bloemers *et al.* (22) demonstraram não só uma incidência aumentada de hospitalizações por RTI inferior por RSV entre crianças com DS mas também um curso mais severo da infecção em comparação com crianças sem a síndrome. O RSV é conhecido por ser a causa mais importante e severa de RTI inferior em crianças e, certos grupos de risco, como recém-nascidos pré-termo, são identificados precocemente e recebem profilaxia imunológica contra a doença. Megged and Schlesinger (23) salientaram que as crianças com DS com RSV são mais velhas e requerem uma hospitalização mais prolongada do que as crianças sem a síndrome, possivelmente refletindo a associação com doença cardíaca.

Mais recentemente, um estudo da utilização dos serviços de saúde por uma coorte de indivíduos com DS na Austrália Ocidental comparou inquéritos conduzidos em 1997 e 2004. Foi notada uma redução na incidência de infecções no geral mas, principalmente, de infecções respiratórias superiores. Análises adicionais da associação com outros achados clínicos demonstraram que a diminuição das infecções auditivas foi vista apenas em doentes com DS sem doença cardíaca mas foi observada uma tendência decrescente de pneumonias, amigdalites e bronquites em ambos os grupos, com e sem doença cardíaca, sugerindo que a função cardíaca não foi determinante no risco de infecções.

Streptococcus pneumoniae, *Haemophilis influenzae* e *Moraxella catarrhalis* são as três bactérias mais comuns a causar otite média aguda e pneumonia em crianças (24, 25). Em relação às infecções respiratórias recorrentes e otite média em crianças com DS, existem alguns estudos acerca dos patógenos causadores, com relatos de casos isolados por etiologias incomuns (p. ex. *Bordetella bronchiseptica*) mas que provavelmente não representam a grande maioria de infecções nas crianças com DS.

Curso prolongado das infecções respiratórias

Apesar de algumas crianças com DS poderem não apresentar infecções frequentes, o curso das suas doenças infecciosas pode ser prolongado e ter uma severidade aumentada em comparação com crianças sem a síndrome. No estudo por Hiton *et al.* (21) a duração mediana do internamento e custo da admissão de crianças com DS foi duas a três vezes superior em comparação com crianças sem DS. Também foi encontrada uma incidência superior de lesão pulmonar aguda secundária a pneumonia em comparação com crianças sem DS. Um estudo subsequente que analisou 24 crianças com DS e 317 crianças sem a síndrome admitidas na ICU pediátrica para ventilação mecânica (26), observou que 58% de crianças com DS e 13% de crianças sem DS preenchiam os critérios de lesão pulmonar aguda. Similarmente, 46% de crianças com DS e 7% de crianças sem DS foram

diagnosticadas com ARDS. No entanto, nenhuma das crianças com DS com lesão pulmonar aguda faleceu, enquanto nas crianças com ARDS sem a síndrome foi observada uma taxa de mortalidade de 5%. Estes dados sugerem que as crianças com DS têm um risco aumentado de progressão para ARDS, apesar de com baixa mortalidade, e suportam a hipótese de mecanismos regulatórios de inflamação anormais, como um desequilíbrio de anti-oxidantes e *stress* oxidativo (27), poderem levar a apoptose no tecido pulmonar.

A avaliação de uma grande coorte de crianças com a síndrome na Suécia e Dinamarca (28) revelou um risco aumentado de 12 vezes para mortalidade devida a infecções, especialmente septicemia. Este excesso de mortalidade foi consistente com dados de um estudo recente no qual crianças com DS demonstraram um risco 30% superior de mortalidade secundária a sépsis (6), após o controlo de fatores confundidores incluindo patogêneos e co-morbilidades.

Os estudos referidos demonstram a frequência aumentada e a severidade de RTIs em crianças com DS. Apesar de serem predominantemente infecções das vias aéreas superiores, as pneumonias ocorrem frequentemente em crianças com menos de 5 anos de idade e condicionam mais hospitalização. A doença pulmonar pode ser de mais longa duração e pode progredir para ARDS. Em adição às infecções do trato respiratório, a doença periodontal é outra condição de etiologia infecciosa que ocorre frequentemente, entre 58% e 96% de indivíduos com DS (29). Devido à complexidade da patofisiologia da gengivite, a contribuição de outros fatores potencialmente determinantes como imunidade anormal e pobre higiene oral ainda não foi bem definida.

Defeitos imunes nos sujeitos com Síndrome de Down

Imunidade Adaptativa

Defeitos nos parâmetros imunológicos na DS têm sido descritos e postulados como explicações para o aumento da severidade de infecções derivadas nestas crianças (9). Uma vez que a maioria destas infecções são do trato respiratório, poderia pensar-se em anormalidades da imunidade humoral, contudo, diferenças em vários compartimentos da resposta imune têm sido deferidos (18, 30). Series reduzidas dos diferentes subconjuntos de linfócitos foram descobertas ser mais significativas na infância, com subsequente melhoria com a idade. As subpopulações de linfócitos B e T estão abaixo do percentil 10 em quase 90% das crianças com DS, e abaixo do percentil 5 em 60% delas.

Timo e linfócitos T

A normal expansão precoce das células T na infância não é observada e o tamanho dos timos destas crianças é inferior em relação ao dos timos de crianças sem DS, com reduzida proporção de células com altos níveis de TCR- $\alpha\beta$ e de CD3 - um sinal de transdução complexo para o TCR - e percentagens relativamente reduzidas de células T *naive*, resultando em linfopenia ligeira ou moderada (31, 32). As alterações mencionadas têm um substrato comum, a disfunção do timo, e estudos anatómicos forneceram evidências adicionais de que alterações no sistema T linfocítico derivam de anormalidades estruturais tímicas. Em comparação com os controlos, timos de crianças com DS desde o primeiro dia até aos 15 meses têm depleção linfóide marcada, com um córtex fino e fraca demarcação cortico-medular. Os corpúsculos de Hassall são de maiores dimensões e frequentemente císticos. Observa-se um aumento nas proporções de células T com a forma $\alpha\beta$ do TCR e CD3 com a idade, o que é indicativo de um atraso na maturação das células T dentro do timo (33). Em adição, timos DS contêm níveis elevados de células a expressar mRNA INF- γ e TNF- α e verifica-se hiperplasia dos mastócitos e sobreexpressão de MHC de classe I, CD18 e ICAM-1. Os timócitos DS também têm uma sensibilidade superior à inibição pela IL-4, cuja proliferação é induzida pelo INF- γ e TNF- α (34). Em conjunto, estes achados indicam uma maturação timocítica anormal e desregulação das citocinas no timo DS, possivelmente iniciado pela sensibilidade aumentada ao INF- γ e à sobreexpressão de CD18 (LFA-1 β).

Contudo, é de salientar que crianças com doença cardíaca congénita que requerem cirurgia cardíaca com timectomia parcial mostram alterações rápidas e permanentes nos números de linfócitos T (35, 36) mas, ao contrário do que se verifica na DS, a sua frequência de infeções e doenças autoimunes não aumenta (37). É, no entanto, importante ter em consideração que a maioria destes estudos são limitados a crianças com DS com infeções recorrentes que podem não representar a população com a síndrome em geral. Contudo, Kusters *et al.* (38) numa coorte de 95 crianças com DS em seguimento verificaram que o número e a percentagem de células T *naive* decresceu aproximadamente para metade nos diferentes grupos etários, comparando com crianças sem DS, apesar de não terem atingido níveis severos de imunodeficiência. Por exemplo, a média de células T *naive* CD4+ em crianças entre os 4 e os 10 anos foi de 280 cels/ μ l (44% das cels T CD4) para DS e 730 (72% das cels T CD4+) para os controlos. Na mesma coorte com DS, os investigadores compararam os vários estadios de maturação de células B sanguíneas periféricas com as de crianças sem DS e verificaram a redução dos números em todos os estadios de maturação das células B, particularmente células B *naive* (15).

Apesar de vários estudos terem analisado o papel do timo e descrito uma variedade de alterações histológicas e morfológicas por observação direta do órgão (33), estão disponíveis poucos dados na literatura acerca da função tímica em termos de produção de células T recém-geradas. Assim, Prada *et al.* (39) desenvolveram um estudo com o objetivo de medir a capacidade do timo de crianças DS para produzir novos linfócitos T e analisar como é que essa capacidade se altera com a idade. Por esta razão, quantificaram os chamados “emigrantes tímicos recentes” (RTE) que são os principais contribuidores para a pool de células T *naïve* e que são caracterizados pela presença no núcleo de uma molécula de DNA circular, designada TREC, gerada durante o rearranjo intra-tímico do locus da cadeia α do TCR. Assim, o DNA permanece no núcleo como um círculo que não é capaz de replicação e, como consequência, quando uma célula é submetida a divisão, a TREC é passada apenas para uma das duas células filhas. Durante os ciclos celulares seguintes, a TREC é depois diluída na população que se origina a partir da primeira célula. Vários dados indicam que a percentagem de células TREC+ é um marcador da atividade tímica, que as células TREC+ estão presentes dentro do subconjunto de linfócitos T virgens e que o seu número consistentemente declina com a idade (40). Assim, a análise quantitativa das células TREC+ na periferia é um marcador relativamente novo e sensível da funcionalidade tímica, que é capaz de providenciar informação sobre o estado do órgão em condições patológicas diferentes e da sua capacidade para gerar novas células T (41, 42).

Neste contexto, Prada *et al.* (39) analisaram amostras sanguíneas de 8 crianças com DS, de idades compreendidas entre os 2 e os 7 anos, comparando com 8 controlos saudáveis para o sexo e para a idade. Para quantificar a quantidade de RTE foi usada PCR em tempo real com o sistema Taqman. A fig. 2 mostra um exemplo típico de um ensaio da PCR em tempo real para a quantificação da quantidade de TREC por célula. É de notar que o limiar do ciclo, isto é, o ciclo de PCR no qual o sinal fluorescente derivado da amplificação do DNA se torna evidente, é bastante diferente nas crianças DS e nos controlos. Realmente, esse ciclo é muito inferior nas crianças controlo, indicando a presença de um número superior de TREC. A percentagem de linfócitos TREC+ nas crianças afetadas pela síndrome e nos controlos é demonstrada na fig. 3. Uma diferença estatisticamente significativa estava presente entre os dois grupos, indicando que a DS é caracterizada por um output tímico inferior.

Figura 2 – Exemplo representativo de PCR em tempo real para a quantificação de TREC num grupo de crianças com síndrome de Down e seus controlos saudáveis

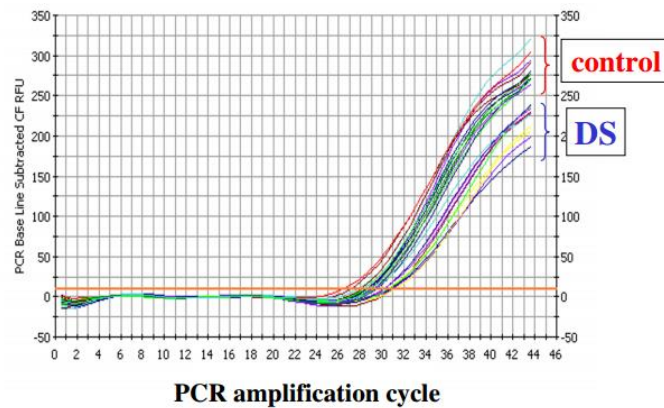
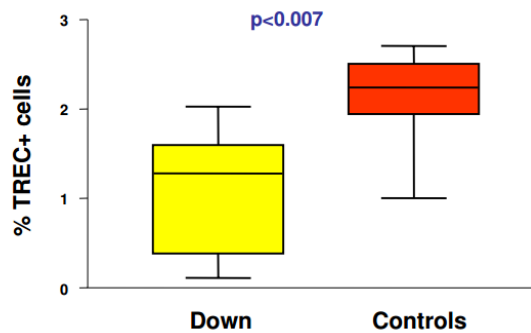
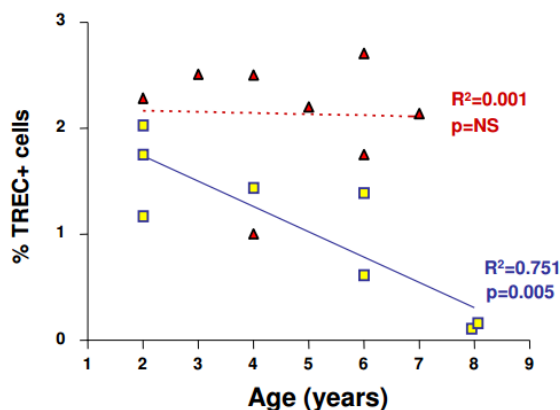


Figura 3 – Crianças com síndrome de Down têm menos linfócitos TREC+ do que os seus controlos saudáveis



Finalmente, os autores investigaram a relação entre a idade e os níveis TREC nos dois grupos. Como é possível observar na fig. 4, é notável que enquanto as crianças controlo não revelavam nenhuma alteração relacionada com a idade, aquelas com DS tinham um decréscimo significativo relacionado com a idade no número de células TREC+. Isto sugere que na síndrome, em contraste com as crianças controlo, alterações major no output tímico ocorrem nos primeiros anos de vida.

Figura 4 – Correlação entre a idade e os níveis TREC em crianças com síndrome de Down (quadrados) e seus controles (triângulos)



De modo a sistematizar os resultados, em comparação com os controles, as crianças DS tinham um número significativamente inferior de células sanguíneas periféricas TREC+ e, além disso, nas crianças DS mas não nos controles, foi encontrada uma forte correlação negativa entre a idade e os níveis de células TREC+. Assim, é possível concluir que as alterações supracitadas do timo resultam numa redução da produção e output de linfócitos gerados de novo. Esta observação, se confirmada num número maior de casos, pode ser útil no desenvolvimento de novas estratégias para tratar a imunodeficiência típica desta síndrome, melhorando a funcionalidade do timo, baseadas, por exemplo, no uso de citocinas capazes de modular a função tímica como a IL-2 ou IL-7 (43).

De entre as anormalidades funcionais dos linfócitos T que têm sido descritas, é de salientar que a resposta proliferativa induzida pela PHA *in vitro* é marcadamente inferior ao normal tanto em crianças como em adultos com DS (8, 44). Em adição, a produção de IL-2 *in vitro* induzida por antígenos bacteriais e virais é marcadamente reduzida, apesar da produção de IL-2 PHA-estimulada não ser comprometida (9, 44). Uma hipótese interessante é a de que a sobreexpressão de LFA-1 e moléculas de adesão celular na DS, localizadas no cromossoma 21, causam alta afinidade entre as células levando a anormal maturação e função (45).

Linfócitos B e produção de anticorpos

As respostas de anticorpos específicas das crianças com DS a várias imunizações foram descobertas deficientes, apesar de terem títulos de IgG protetores. Lopez *et al.* (46)

mostraram que títulos de IgG específicos para o neoantígeno bacteriofágico phi-x174 em crianças com DS eram inferiores às taxas normais. Respostas com anticorpos igualmente diminuídas foram observadas para eritrócitos de ratos e antígenos da *Escherichia coli* (47). Hawkes *et al.* (48) detetaram títulos de anticorpos reduzidos para a vacina polio oral de 9 indivíduos com DS em comparação com indivíduos sem DS, apesar de significância estatística só para o poliovírus tipo 1, mas não tipos para os tipos 2 e 3. Resultados semelhantes foram referidos para outras vacinas, como pertussis acelular (49), antígeno influenza (50), hepatite B (51), hepatite A (52) e vacina pneumocócica em adultos (53) e crianças com DS (54). Respostas anticorpo-específicas são eliciadas em crianças com DS, apesar de com títulos inferiores aos indivíduos controle, o que é consistente com a frequência aumentada de infecções do trato respiratório.

Auto-anticorpos contra a tireoglobulina e gliadina humanas são observados mais frequentemente em crianças com DS (55, 56), tal como títulos elevados contra a caseína e a beta-lactoglobulina (55).

A alta frequência de doença periodontal na DS pode ser explicada em parte pela deficiência de IgA na saliva destes indivíduos. Um estudo em adultos com a síndrome demonstrou uma redução drástica de ambas as concentrações de IgA total na saliva e IgA específica para os patógenos orais comuns, em comparação com controles (55).

Apesar de paradoxal face à linfocitopenia demonstrada em diferentes estudos (56), incluindo um decréscimo significativo de linfócitos B (CD19+) em fetos com DS (57), é descrita uma hipergamaglobulinemia das imunoglobulinas IgG após os 5 anos de idade. Observam-se também altos níveis de IgG1 e IgG3, baixos níveis de IgG2 e IgG4, redução de níveis de IgM na adolescência e níveis de IgD elevados (51, 58). Os linfócitos T *helper* do tipo 1 (Th1) produzem citocinas tais como IFN- γ , IL-2 e TNF- β que estimulam as respostas dos linfócitos T citotóxicos e a produção de imunoglobulinas IgG1 e IgG3; enquanto os linfócitos T *helper* do tipo 2 (Th2) produzem citocinas como a IL-4, IL-5, IL-6 e IL-10 que estimulam respostas de anticorpos por linfócitos B e a formação de IgG2 e IgG4. Em comparação com indivíduos com déficit cognitivo sem a síndrome e controles saudáveis, adultos com DS têm percentagens significativamente superiores de produção de IFN- γ pelas células CD4+ e CD8+ e a razão Th1/Th2 aumentada (59). Assim, podem ser justificados os níveis aumentados de IgG1 e IgG3 e diminuídos de IgG2 e IgG4 na DS, bem como o distúrbio na função linfocítica T *helper* (58, 60).

Foi conduzido, mais recentemente, um estudo prospectivo que incluiu 30 crianças DS e 30 controles saudáveis relacionados no sexo e idade, com o objetivo de avaliar os níveis de imunoglobulinas e correlacioná-los com a ocorrência de infecções do trato respiratório. Verificou-se que os níveis séricos de IgG e IgA tendiam a aumentar com o número de episódios de RTIs inferiores e que os níveis de IgM tendiam a ser inferiores em

doentes com mais episódios deste tipo de infeções. Uma vez que a combinação de baixos níveis de IgM com níveis elevados de IgG e IgA foi encontrada em crianças DS com aumento da prevalência de infeção, os autores levantam a possibilidade da incidência aumentada de RTIs nestas crianças poder ser secundária a um sistema imune deficitário.

Estas anormalidades podem ser devidas quer a um defeito intrínseco dos linfócitos B, quer a uma função deficiente dos linfócitos T *helper* com consequente controlo inadequado da ativação e proliferação dos primeiros. A título de comparação, doentes com síndrome de DiGeorge (deleção 22q11) relevam uma hipoplasia tímica congénita, com grau variável de deficiência em linfócitos T em 80% dos casos (61). Como na DS, as contagens de células TREC+ estão diminuídas na periferia e os linfócitos T aproximam-se gradualmente dos valores normais com o tempo. No entanto, ao contrário do que é verificado na DS, a linfocitopenia B não é observada na síndrome de DiGeorge (62).

Imunidade inata e células *natural killer*

Os estudos mais precoces da função imune e infeção em indivíduos com DS, no final dos anos 70, não encontraram diferenças na imunidade humoral e celular, mas encontraram na quimiotaxia neutrofílica (63, 64). Outras funções dos neutrófilos, como a fagocitose e as respostas oxidativas, não foram consistentemente referidas como sendo afetadas nesses estudos (65, 66). Foram também conduzidos estudos da integrina β -2 (CD18), cujo gene codificador se localiza no cromossoma 21 (ITGB2), em células sanguíneas com DS. Os estudos iniciais da expressão de CD18 em indivíduos com DS, usando linfoblastos, referiram um aumento da sua expressão na superfície celular e agregação subsequente (67, 68), contudo, Novo *et al.* (69, 70) mostraram que este aumento de expressão não ocorre em células não transformadas. Os autores estudaram de forma abrangente funções de células polimorfonucleares isoladas de fresco e evidenciaram a expressão de integrinas à superfície, fagocitose e respostas oxidativas em comparação com os controlos. Encontraram uma redução significativa na atividade quimiotática. As normais repostas oxidativas contra-argumentam a hipótese da sobreexpressão do gene SOD1 ser responsável pela constatada deficiente fagocitose e morte subsequente dos patógenos pelos neutrófilos dos indivíduos com DS.

Estudos usando apenas o CD46 como marcador de superfície para as células NK sugeriram que essas células estavam aumentadas no sangue periférico de indivíduos com DS, o que parecia suportar a teoria de envelhecimento precoce, uma vez que percentagens altas destas células são normalmente vistas com o envelhecimento (10, 71, 72). No

entanto, estudos mais recentes têm demonstrado que os números absolutos de células NK são afinal baixos, e a discrepância foi atribuída à diferença nos marcadores de superfície usados. Distúrbios na secreção das citocinas IL-2, IL-7, IL-10 (73) e deficiência das proteínas de ligação (74) também têm sido sugeridos como contributo para a suscetibilidade aumentada a infecções.

Nestas crianças, as infecções do trato respiratório inferior são mais frequentemente causadas por patógenos virais, como o RSV ou o influenza A. O primeiro, como já referido, pode levar a bronquiolite grave que é causa frequente de hospitalização nas crianças com DS (23) e o segundo está associado, na síndrome, a um risco aumentado de internamento hospitalar, intubação endotraqueal e morte secundária (75). Foi encontrada uma resposta pro-inflamatória com citocinas aumentada ao vírus influenza A nestas crianças, o que pode contribuir para a severidade aumentada do curso clínico desta infecção (76). No entanto, patógenos bacterianos, quer Gram positivos quer Gram negativos, também podem causar RTIs inferiores em crianças. Contudo, nada é conhecido acerca da resposta imune das crianças com DS a estes tipos de RTIs e, por esta razão, Broers *et al.* (77) recorreram à estimulação *ex vivo* com *Streptococcus pneumoniae* e lipopolissacarídeo no sangue de crianças com DS e seus irmãos saudáveis, como modelo para a RTI bacteriana Gram-positiva e Gram-negativa. Após a estimulação, avaliaram os níveis de mediadores inflamatórios como o TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-12p70 e IL-10 nos sobrenadantes de culturas, de modo a avaliar a produção de citocinas. As concentrações das citocinas pro e anti-inflamatórias mencionadas foram determinadas às 0, 6, 24 e 48h. O achado mais importante do estudo foi o de que as crianças com DS produzem níveis aumentados de IL-10 após a estimulação com *S. pneumoniae*. É ainda de salientar que os níveis de IL-6 às 6h foram significativamente maiores no grupo com DS e que os níveis de IL-1 β às 48h após estimulação com LPS foram significativamente inferiores no grupo com DS, apesar de não terem sido observadas diferenças significativas no que diz respeito aos níveis de IL-10.

Têm sido realizados muitos estudos com animais, especialmente em ratos, para investigar a infecção pulmonar pelo pneumococo. Em ratos com pneumonia induzida pela inoculação intranasal da bactéria, níveis superiores da citocina anti-inflamatória IL-10 estavam associados a níveis pulmonares diminuídos de TNF- α e IFN- γ , contagens bacterianas aumentadas nos pulmões e no sangue e letalidade precoce (78). Em adultos com pneumonia pneumocócica, altos níveis de IL-10 estavam presentes no soro à admissão e declinaram em 48h enquanto tratados com antibióticos (79). Para além disso, outro estudo em humanos com pneumonia pneumocócica, revelou que altos níveis de IL-10 aumentaram a taxa de mortalidade intra-hospitalar (80). Em relação aos níveis significativamente superiores de IL-6 às 6h no grupo com DS após a estimulação, Van der Poll *et al.* (78) referiram o efeito protetor da IL-6 pulmonar e plasmática na pneumonia em

ratos após a infecção intranasal com o pneumococo, com uma taxa de mortalidade foi inferior, assim como a quantidade de bactéria nos pulmões. Assim, a IL-6 regula negativamente a ativação da cadeia de citocinas a nível pulmonar, através do controlo da ativação de ambos os mediadores, agonistas e antagonistas, durante a pneumonia pneumocócica, contribuindo para a defesa do hospedeiro (81). Contudo, em humanos com pneumonia pneumocócica, altos níveis de IL-6 no soro foram associados à mais frequente admissão na UCI e também a mortalidade superior (82). Uma vez que não têm sido realizados estudos em crianças com DS com pneumonia pneumocócica que meçam a produção local de citocinas, é difícil extrapolar os resultados do estudo de Broers *et al.* (77) para a perspetiva clínica deste grupo específico de doentes. Por um lado, os níveis de IL-6 elevados encontrados numa fase precoce de infeção nas crianças com DS podem proteger contra um curso clínico severo da RTI se as experiências em ratos forem tidas em consideração; no entanto, no que concerne aos estudos humanos acima mencionados, níveis elevados de IL-6 podem ter um efeito deplorável. No que respeita à estimulação com LPS são de salientar os níveis significativamente inferiores de IL-1 β às 48h nas crianças com DS em comparação com os controlos. No modelo da pneumonia Gram-negativa em ratos, Herold *et al.* (83) demonstraram que a lesão pulmonar aguda era mediada por IL-1 β e que era atenuada por um antagonista do recetor da IL-1. Altos níveis de IL-1 β no fluido do lavado bronco-alveolar de humanos ventilados mecanicamente com pneumonia adquirida na comunidade devida à *Pseudomonas aeruginosa* estavam associados a alta carga bacteriana nos alvéolos, o que também estava associado à inflamação progressiva do pulmão (84). Assim, os níveis significativamente inferiores de il-1 β nas crianças com DS podem protegê-las da lesão pulmonar aguda na pneumonia Gram-negativa.

Tabela 1 – Visão geral das diferenças relevantes para os cuidados clínicos diários encontradas entre os sistemas imunes de indivíduos com e sem síndrome de Down desde os anos 70

Lymphocyte subpopulations	
CD3 ⁺ CD16 and/or 56 ⁺ NK cells	Decreased (abs)
CD19 ⁺ B lymphocytes	Decreased (abs; %)
CD3 ⁺ T lymphocytes	Decreased/normal (abs)
CD3 ⁺ CD4 ⁺ T helper lymphocytes	Decreased (abs; %)
CD3 ⁺ CD8 ⁺ cytotoxic T lymphocytes	Decreased/normal (abs)
CD4 ⁺ CD45RA ⁺ cells	Decreased (%)
Th1/Th2 ratio	Increased
CD4/CD8 ratio	Inverted ratio
TCR- $\alpha\beta$ ⁺ T lymphocytes	Decreased (%)
CD8 ⁺ CD57 ⁺ cells	Increased (%)
Immunoglobulins	
IgG	Increased > 6 years
IgM	Decreased > 6 years
IgA	Increased > 6 years/normal
IgG ₁	Increased/normal
IgG ₂	Decreased/normal
IgG ₃	Increased/normal
IgG ₄	Decreased/normal
Response to vaccination	
Pneumococcal polysaccharide vaccine	Decreased/normal
Tetanus vaccine	Decreased
Pertussis vaccine (acellular)	Decreased
Hepatitis B vaccine	Decreased/normal
Hepatitis A vaccine	Normal
Influenza vaccine	Decreased
Polio vaccine (oral)	Decreased

Abs, absolute counts; CD, cluster of differentiation; Ig, immunoglobulin; NK, natural killer; TCR, T cell receptor; Th, T helper lymphocyte; %, relative counts.

Síndrome de Down: imunodeficiência primária e secundária

Kuster *et al.* (38) sumarizaram a evidência que suporta um defeito intrínseco do sistema imune nas crianças com DS, baseada nas baixas contagens de células *naïve* T e B e na frequência aumentada de infecções nas crianças com a síndrome com números normais de células B e T. Os mecanismos genéticos que determinam os defeitos imunológicos associados à síndrome não estão bem definidos. A sobreexpressão de SOD1 e ITGB2, dois genes localizados no cromossoma 21 e de significância para as funções neutrofílicas, não demonstrou prejudicar significativamente a resposta imune. No entanto, tem sido levantada a questão de se outros genes do cromossoma 21 podem prejudicar diretamente as respostas imunes inatas e adquiridas. A título de exemplo, o regulador da calcineurina 1 (RCAN1) é um fator de transcrição que inibe o sinal de transdução mediado pelo fator nuclear de células T ativadas (NFAT) (85), e tem sido demonstrado experimentalmente que reduz as respostas inflamatórias por estabilizar o inibidor do fator nuclear kappa B (NF- κ B) (86). Doentes com DS partilham características clínicas, como

manifestações autoimunes e auto-anticorpos específicos, com os doentes afetados pela Poliendocrinopatia Autoimune tipo 1. Esta síndrome é causada por mutações no gene regulador auto-imune, localizado no cromossoma 21, que regula a expressão de antigénios restritos a tecidos nas células epiteliais tímicas. Skogberg *et al.* (87) investigaram a expressão de AIRE e TRAs na DS e tecido tímico controlo usando PCR quantitativa. Os níveis de mRNA de AIRE estavam elevados no tecido tímico de doentes com DS e verificou-se uma tendência aumentada na expressão de genes controladores do AIRE como insulina e CHRNA1. Colorações imunohistoquímicas revelaram alteração da composição celular e da arquitetura da medula tímica em indivíduos com DS, com frequência aumentada de células epiteliais medulares AIRE-positivas e células dendríticas CD11c-positivas, bem como corpúsculos de Hassal aumentados. Em adição, os autores avaliaram ainda o perfil proteómico dos exossomas tímicos dos indivíduos com DS e dos controlos. Os exossomas com DS transportam um mais amplo conjunto de proteínas e também um maior conjunto de TRAs únicos em comparação com os exossomas controlo. Em conclusão, o aumento da dose do gene AIRE em doentes com DS pode contribuir para um fenótipo autoimune através dos múltiplos efeitos mediados pelo AIRE na homeostasia e na função das células epiteliais tímicas, afetando o processo de seleção tímica.

Têm sido exploradas duas causas possíveis de imunodeficiência secundária, o envelhecimento acelerado e a deficiência em zinco. Por causa da senescência associada a condições neurológicas na DS, como doença de Alzheimer prematura (1), um processo de envelhecimento semelhante do sistema imune tem sido sugerido, incluindo mecanismos de apoptose aumentada que podem ser responsáveis pela linfopenia observada e disfunção imune (88). A deficiência dos níveis de zinco plasmáticos observados em alguns indivíduos com DS e a necessidade de zinco para a atividade da SOD têm sido propostos como mecanismos de anormalidades imunológicas. Cocchi *et al.* (30) testaram se a deficiência em zinco poderia ser apenas transitória, e descobriram que os níveis plasmáticos de zinco diminuem com o tempo após os 5 anos de idade. Contudo, estudos observacionais comparando os níveis de zinco e o estado imune, e ensaios clínicos de suplementação com zinco têm falhado em demonstrar um benefício clínico consistente (89, 90).

Fatores não imunológicos que aumentam o risco de infeções

Apesar das múltiplas anormalidades imunológicas acima mencionadas, ainda não é claro que estas sejam os determinantes do risco aumentado a infeções em crianças com

DS. Esta suscetibilidade a infecções é provavelmente acentuada por outros fatores ou comorbidades que enfraquecem as barreiras mucosas, como por exemplo, a anormal anatomia da via aérea e do ouvido, a macroglossia, a doença cardíaca congênita e a doença reativa da via aérea ou a incapacidade para eliminar com secreções respiratórias.

Anormalidades anatómicas da via aérea

Anormalidades anatómicas da via aérea podem prejudicar a remoção de secreções e, assim, facilitar infecções. Bertrand *et al.* (91) descreveram anormalidades da via aérea, detetadas por broncoscopia de fibra óptica, em 75% das crianças com DS e em 35% das crianças sem a síndrome com sintomas respiratórios recorrentes. A laringomalácia foi a anormalidade mais comum encontrada em ambos os grupos, com 50% de incidência no grupo com DS comparada com 19% no grupo sem DS. Traqueomalácia e brônquio traqueal também foram observados e evidência de hipoplasia pulmonar associada à síndrome tem sido igualmente referida (92).

Apneia Obstrutiva do Sono

A apneia do sono com obstrução da via aérea é extremamente comum na DS, com uma incidência de 63 a quase 80% (93). Os fatores predisponentes que levam a apneia obstrutiva do sono na síndrome incluem a característica hipoplasia da face média, hipertrofia da língua e hipoplasia mandibular. Esta pequena via aérea superior, em combinação com amígdalas e adenoides relativamente grandes, contribuem para a obstrução da via aérea e aumentam a suscetibilidade a infecções. A obstrução da via aérea superior devida a hipertrofia das amígdalas e adenoides foi reportada em 30 (6%) de 518 crianças com DS vistas consecutivamente (94). Aquelas com sintomas obstrutivos severos, como roncopatia, teriam mais provavelmente traqueobronquiomalácia, laringomalácia, macroglossia e estenose traqueal congênita. Nestes estudos, cinco doentes requereram traqueostomia por causa da sua obstrução persistente.

Refluxo gastroesofágico e aspiração orofaríngea

O refluxo gastroesofágico pode resultar em aspiração do conteúdo gástrico para as vias aéreas causando inflamação pulmonar ou um mecanismo reflexo do esôfago inferior que desencadeia broncoespasmo (95). Deste modo, é recomendado excluir refluxo

gastroesofágico em crianças que apresentam doença respiratória recorrente. É já bem sabido que a aspiração de fluidos finos está associada ao aumento da incidência de infecções do trato respiratório inferior. Assim, pode-se deduzir que a hipotonia associada à DS, que inclui fraco tônus muscular da faringe, aumenta o risco de aspiração nestes doentes (96). A aspiração subclínica pode ser responsável por até 12% dos casos de queixas respiratórias crônicas em crianças sem DS e até 42% em crianças com DS (97). Zarate *et al.* (98) estudaram esofagogramas de 58 indivíduos com DS e 38 controles saudáveis e encontraram uma retenção maior que o limite superior de retenção dos controles em 15 dos participantes com a síndrome.

Anomalias congénitas do ouvido

Até 40-50% dos recém-nascidos com DS podem apresentar estenose do canal auditivo externo (99) e a trompa de Eustáquio pode também ser de pequena largura, contribuindo para a coleção de fluido no ouvido médio e otite crónica média subsequente (100). A otite média pode explicar a alta incidência de perda auditiva e o atraso no desenvolvimento da linguagem comuns na síndrome (101).

Parâmetros hematológicos nas crianças com Síndrome de Down

São escassos os estudos que investigaram os parâmetros hematológicos nas crianças com DS e se podem interferir com os valores de referência do hemograma. Nesse sentido, Nisihara *et al.* conduziram um estudo em Abril de 2015 com o objetivo de analisar os resultados dos hemogramas de crianças com DS, com idades compreendidas entre os 2 e os 10 anos, e sem quaisquer sintomas de infeção bacteriana ou viral no momento do exame. Os parâmetros hematológicos incluídos foram o número total de eritrócitos, concentração de hemoglobina, índices hematimétricos e número total de plaquetas e de leucócitos. Adicionalmente, foram comparados os parâmetros coletados em relação ao género e à idade das crianças estudadas. No total, foram avaliados 203 hemogramas, 100 de crianças do sexo feminino e 103 do masculino. De modo geral, comparando-se os valores encontrados nas amostras destas crianças e os valores já descritos na literatura como sendo de referência para essa faixa etária, não foram observadas diferenças significativas nos parâmetros estudados. Não se observou diferença na prevalência de anemia entre os géneros, com 14/103 (13,6%) de meninos e 11/100 (11%) de meninas

com anemia. No entanto, observou-se que as crianças do sexo masculino apresentavam Hb e índices hematimétricos significativamente inferiores às do sexo feminino. O estudo permitiu inferir que, apesar de todas as alterações causadas pela síndrome, os índices hematológicos encontram-se dentro do esperado para as crianças com DS e verificou ainda que 12,3% delas apresentavam anemia.

Discussão

Ao nascimento e durante os primeiros anos de vida, uma criança com DS pode apresentar vários problemas de saúde, entre os quais os mais importantes incluem anomalias cardíacas congênitas, hipotonia, perda auditiva, distúrbios tiroideus e aumento da suscetibilidade a infecções (7). Com o passar dos anos, as manifestações clínicas descritas em doentes com DS são semelhantes às do processo de envelhecimento, com alta prevalência de infecções bacterianas e virais, doenças auto-imunes e progressão precoce para demência, após os 40 anos de idade. Com base nestes achados, a DS tem sido há muito considerada como uma doença progeróide. (102).

Apesar das infecções frequentes do trato respiratório serem consideradas um componente significativo de morbilidade nestas crianças e ainda constituírem a principal causa de morte em todas as idades, poucos estudos ajudam a definir a epidemiologia destas infecções na população com a síndrome. Para além da incidência superior de infecções respiratórias, parece que as crianças com DS sofrem um período de tempo de doença prolongado e precisam de tratamento adicional para ultrapassar as mesmas infecções em comparação com crianças sem a síndrome. Contudo, é necessária investigação adicional para poder concluir se é subjacente a um defeito intrínseco do sistema imune dos indivíduos com DS ou essencialmente secundário às várias características associadas à síndrome.

O envelhecimento imunológico faz parte de um contínuo processo de desenvolvimento, abrangendo eventos reorganizacionais complexos, mecanismos compensatórios e alterações qualitativas na funcionalidade de vários sistemas e órgãos. Entre os órgãos submetidos a alterações major com o envelhecimento, o timo desempenha um papel relevante (103). O timo é um órgão linfoide primário responsável pela diferenciação, seleção e maturação dos linfócitos T. Pouco depois do nascimento, o timo é sujeito a um processo de involução ao longo da vida em que o órgão é substituído por tecido adiposo. O resultado é a redução no número de constituintes timocíticos com a idade, com consequente involução e declínio no output de linfócitos T gerados de novo (104).

Atualmente, a hipótese mais aceite é a de que alterações morfológicas do timo são a causa principal de anormalidades imunes. Como resultado, parece que as alterações tímicas observadas nos doentes com DS afetam a função T linfocítica, também causando um desequilíbrio na cadeia de citocinas. A pool de células T periféricas envelhecidas é caracterizada pela acumulação de células T capazes de replicação limitada (105). Uma vez que uma resposta imune eficiente é baseada na expansão de clones antígeno-específicos,

a consequência de um prejuízo qualitativo e/ou quantitativo do sistema é um aumento da suscetibilidade a infecções ou cancro. Vários autores têm estudado o sistema imune durante o envelhecimento humano, usando diferentes modelos, incluindo aquele que representa o melhor exemplo de envelhecimento bem-sucedido, centenários saudáveis, e condições de envelhecimento acelerado como a DS (106).

Fetos com DS mostram alterações dos parâmetros usados na avaliação da função tímica: anormal anatomia tímica e baixas contagens TREC, que são usados como marcadores da função tímica. Para além disso, a proporção de células T *helper* diminuída, com diminuição do ratio de células *helper*/citotóxicas, o número diminuído de células T sanguíneas periféricas a expressar o TCR- $\alpha\beta$ e a proporção diminuída células T *naive* observada nos indivíduos com a síndrome, sugere que o timo DS não é eficiente na libertação de células T maduras funcionais (107). Uma dependência da idade na resposta proliferativa à PHA de linfócitos DS, mas não de linfócitos de indivíduos saudáveis, foi também observada. As respostas proliferativas alogénicas de linfócitos mistos estão diminuídas, assim como a produção de IL-2 PHA-induzida e a atividade T linfocítica citotóxica (108).

Isto provavelmente ocorre porque alguns genes controladores da divisão e proliferação de timócitos estão presentes no cromossoma 21. De entre os genes do cromossoma 21 que podem influenciar a resposta imune, destacam-se o SOD1, que leva a um comprometimento da interação entre os timócitos imaturos e as células estromais tímicas, e RCAN1. Contudo, mais recentemente, com base nas semelhanças entre as manifestações auto-imunes e auto-anticorpos específicos dos doentes com DS e Poliendocrinopatia auto-imune Tipo 1, foi levantada também a possibilidade da sobreexpressão do gene AIRE contribuir para o fenótipo auto-imune na DS, através de uma complexa influência na seleção tímica. Anormalidades que afetem a função do antígeno associado à função linfocítica, também codificado no cromossoma 21, comprometem a ativação linfocítica em linfócitos maduros, o que pode perturbar o processo de maturação linfocítica. Com base na observação de que a expressão de LFA-1 está aumentada nos linfócitos dos doentes com SD, foi postulado que a sobreexpressão de LFA-1 em linfócitos devido à sobredosagem do gene e a subsequente sobreadesão linfocítica levam a anomalias no desenvolvimento e função linfocítica (109). Isto pode explicar, em parte, as anomalias imunológicas da resposta humoral a antígenos estranhos demonstrada na DS.

Ainda não está completamente esclarecido mas é possível que em adição às anormalidades do timo, os linfócitos B e T também sejam funcionalmente deficientes (110). Vários componentes do sistema imune são variavelmente afetados nos indivíduos com DS, dos quais os mais consistentemente referidos são defeitos na quimiotaxia dos neutrófilos

e baixas respostas imunes humorais. Em relação aos níveis de imunoglobulinas correlacionados com as infecções, os valores significativamente superiores de IgG e IgA associados ao aumento dos episódios de infecção podem ser explicados por uma eliminação mais lenta dos agentes infecciosos na síndrome, levando a uma supra-estimulação do sistema imune e a uma produção aumentada de anticorpos. Em contraste, os níveis significativamente inferiores de IgM provavelmente indicam uma baixa capacidade anti-infecciosa das crianças DS.

O trato respiratório humano está continuamente exposto a microorganismos. A primeira linha de defesa contra estes patógenos, que faz parte da resposta imune inata, é principalmente formada pelo epitélio ciliado, células dendríticas e macrófagos que estão presentes localmente. Através da fagocitose e morte posterior, os patógenos em causa são destruídos e removidos, sendo assim prevenida a invasão de tecido adicional. Para além disso, uma resposta imune mais específica é iniciada localmente, com a produção de citocinas pro e anti-inflamatórias (111). Com o objetivo de investigar se as crianças com DS podem ser consideradas como um grupo de risco adicional para ITR pneumocócica e, nesse sentido, para desvendar a reposta imune inata subjacente a um estímulo bacteriano Gram-positivo, foi então realizada a estimulação *ex vivo* com *S. Pneumoniae*, como modelo para a pneumonia bacteriana Gram-positiva. O achado mais importante do estudo foi o de que as crianças com DS produzem níveis aumentados de IL-10 após a estimulação. Após a estimulação com LPS, fator de virulência importante das bactérias Gram-negativas, não foram observadas alterações nos níveis da interleucina. Os resultados demonstraram que diferentes microorganismos desempenham um papel importante na resposta do hospedeiro e desencadeiam diferentes respostas inflamatórias, dependendo das suas propriedades intrínsecas. Ambos, o pneumococo e o LPS, interagem com TLR4 nas células da imunidade inata, contudo, o pneumococo também interage com TLR1 e TLR2, o que provavelmente leva à diferença na produção de IL-10 entre as estimulações com LPS e *S. pneumoniae* (112).

Fatores que podem induzir imunodeficiência têm sido postulados, como deficiência em zinco e acelerada imunosenescência, apesar das suas significâncias clínicas não terem sido estabelecidas. Os defeitos anatómicos comuns na síndrome alteram as barreiras inatas e facilitam o processo de doença infecciosa e precisam de ser considerados na abordagem das infeções nestes doentes. (113).

A anemia é considerada uma situação relativamente frequente, afetando principalmente crianças e grávidas, especialmente nos países em desenvolvimento. Alguns autores têm demonstrado que crianças com DS são mais predispostas para desenvolver desordens hematológicas, como anemia, o que pode estar relacionado, mais uma vez, com o envolvimento de genes localizados no cromossoma 21, participantes do

ciclo de metilação do folato, um componente essencial para a formação de Hb e síntese de DNA. Alguns destes genes são responsáveis por codificar proteínas e RNAs e estas alterações podem também alterar a diferenciação das células hematopoiéticas. Roberts *et al.* (114) sugerem que a trissomia tem um impacto complexo na biologia das células progenitoras hematopoiéticas, desregulando o seu crescimento e diferenciação durante o estágio embrionário. Além disso, é estimado que as crianças com DS tenham uma probabilidade 10 a 20% superior para desenvolver leucemia e doenças mieloproliferativas em relação aos indivíduos sem a síndrome (115).

Para concluir, com base nos estudos até então desenvolvidos, é muito mais provável que o sistema imune destas crianças seja intrinsecamente deficiente desde o início e não consequente a um processo generalizado de envelhecimento precoce. Apesar de não ser ainda claro, existe pelo menos a possibilidade de que, para além das aparentes anormalidades tímicas e dos linfócitos T, os linfócitos B também sejam intrinsecamente deficientes. Deve ser sugerida a investigação adicional às crianças com DS que apresentam frequência aumentada de infeções. Nesta avaliação, baixos títulos de anticorpos específicos pós-vacinais, nomeadamente anti-pneumocócicos, sugeriria a necessidade de intensificar as doses de imunização. As observações acima mencionadas, nomeadamente em relação às alterações tímicas que resultam na redução da produção e output dos linfócitos gerados de novo, se confirmadas para um número maior de casos, podem ser de grande utilidade no desenvolvimento de novas estratégias para o tratamento da imunodeficiência associada à síndrome. Estudos adicionais são necessários para melhor compreender os mecanismos subjacentes a esta imunodeficiência e para avaliar as suas implicações na abordagem clínica.

Referências Bibliográficas

1. Lott IT. Down's syndrome, aging, and Alzheimer's disease: a clinical review. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1982;396:15-27.
2. Tolksdorf M, Wiedemann HR. Clinical aspects of Down's syndrome from infancy to adult life. *Human genetics Supplement*. 1981;2:3-31.
3. Goldacre MJ, Wotton CJ, Seagroatt V, Yeates D. Cancers and immune related diseases associated with Down's syndrome: a record linkage study. *Archives of disease in childhood*. 2004;89(11):1014-7.
4. Fabia J, Drolette M. Malformations and leukemia in children with Down's syndrome. *Pediatrics*. 1970;45(1):60-70.
5. Fraumeni JF, Jr., Manning MD, Mitus WJ. Acute childhood leukemia: epidemiologic study by cell type of 1,263 cases at the Children's Cancer Research Foundation in Boston, 1947-65. *Journal of the National Cancer Institute*. 1971;46(3):461-70.
6. Garrison MM, Jeffries H, Christakis DA. Risk of death for children with down syndrome and sepsis. *The Journal of pediatrics*. 2005;147(6):748-52.
7. Yang Q, Rasmussen SA, Friedman JM. Mortality associated with Down's syndrome in the USA from 1983 to 1997: a population-based study. *Lancet (London, England)*. 2002;359(9311):1019-25.
8. Levin S, Schlesinger M, Handzel Z, Hahn T, Altman Y, Czernobilsky B, et al. Thymic deficiency in Down's syndrome. *Pediatrics*. 1979;63(1):80-7.
9. Burgio GR, Lanzavecchia A, Maccario R, Vitiello A, Plebani A, Ugazio AG. Immunodeficiency in Down's syndrome: T-lymphocyte subset imbalance in trisomic children. *Clinical and experimental immunology*. 1978;33(2):298-301.
10. Cossarizza A, Monti D, Montagnani G, Ortolani C, Masi M, Zannotti M, et al. Precocious aging of the immune system in Down syndrome: alteration of B lymphocytes, T-lymphocyte subsets, and cells with natural killer markers. *American journal of medical genetics Supplement*. 1990;7:213-8.
11. de Vries E. Patient-centred screening for primary immunodeficiency, a multi-stage diagnostic protocol designed for non-immunologists: 2011 update. *Clinical and experimental immunology*. 2012;167(1):108-19.
12. van Trotsenburg AS, Heymans HS, Tijssen JG, de Vijlder JJ, Vulsma T. Comorbidity, hospitalization, and medication use and their influence on mental and motor development of young infants with Down syndrome. *Pediatrics*. 2006;118(4):1633-9.
13. Sanchez-Albisua I, Storm W, Wascher I, Stern M. How frequent is coeliac disease in Down syndrome? *European journal of pediatrics*. 2002;161(12):683-4.

14. Mannan SE, Yousef E, Hossain J. Prevalence of positive skin prick test results in children with Down syndrome: a case-control study. *Annals of allergy, asthma & immunology : official publication of the American College of Allergy, Asthma, & Immunology*. 2009;102(3):205-9.
15. Verstegen RH, Kusters MA, Gemen EF, E DEV. Down syndrome B-lymphocyte subpopulations, intrinsic defect or decreased T-lymphocyte help. *Pediatric research*. 2010;67(5):563-9.
16. Selikowitz M. Health problems and health checks in school-aged children with Down syndrome. *Journal of paediatrics and child health*. 1992;28(5):383-6.
17. Cruz NV, Mahmoud SA, Chen H, Lowery-Nordberg M, Berlin K, Bahna SL. Follow-up study of immune defects in patients with dysmorphic disorders. *Annals of allergy, asthma & immunology : official publication of the American College of Allergy, Asthma, & Immunology*. 2009;102(5):426-31.
18. Kusters MA, Verstegen RH, Gemen EF, de Vries E. Intrinsic defect of the immune system in children with Down syndrome: a review. *Clinical and experimental immunology*. 2009;156(2):189-93.
19. Lopes-da-Silva S, Rizzo LV. Autoimmunity in common variable immunodeficiency. *Journal of clinical immunology*. 2008;28 Suppl 1:S46-55.
20. Liston A, Enders A, Siggs OM. Unravelling the association of partial T-cell immunodeficiency and immune dysregulation. *Nature reviews Immunology*. 2008;8(7):545-58.
21. Hilton JM, Fitzgerald DA, Cooper DM. Respiratory morbidity of hospitalized children with Trisomy 21. *Journal of paediatrics and child health*. 1999;35(4):383-6.
22. Bloemers BL, van Furth AM, Weijerman ME, Gemke RJ, Broers CJ, van den Ende K, et al. Down syndrome: a novel risk factor for respiratory syncytial virus bronchiolitis--a prospective birth-cohort study. *Pediatrics*. 2007;120(4):e1076-81.
23. Megged O, Schlesinger Y. Down syndrome and respiratory syncytial virus infection. *The Pediatric infectious disease journal*. 2010;29(7):672-3.
24. Casey JR, Pichichero ME. Changes in frequency and pathogens causing acute otitis media in 1995-2003. *The Pediatric infectious disease journal*. 2004;23(9):824-8.
25. Don M, Canciani M, Korppi M. Community-acquired pneumonia in children: what's old? What's new? *Acta paediatrica (Oslo, Norway : 1992)*. 2010;99(11):1602-8.
26. Bruijn M, van der Aa LB, van Rijn RR, Bos AP, van Woensel JB. High incidence of acute lung injury in children with Down syndrome. *Intensive care medicine*. 2007;33(12):2179-82.

27. Jovanovic SV, Clements D, MacLeod K. Biomarkers of oxidative stress are significantly elevated in Down syndrome. *Free radical biology & medicine*. 1998;25(9):1044-8.
28. Hill DA, Gridley G, Cnattingius S, Mellekjaer L, Linet M, Adami HO, et al. Mortality and cancer incidence among individuals with Down syndrome. *Archives of internal medicine*. 2003;163(6):705-11.
29. Morgan J. Why is periodontal disease more prevalent and more severe in people with Down syndrome? *Special care in dentistry : official publication of the American Association of Hospital Dentists, the Academy of Dentistry for the Handicapped, and the American Society for Geriatric Dentistry*. 2007;27(5):196-201.
30. Cocchi G, Mastrocola M, Capelli M, Bastelli A, Vitali F, Corvaglia L. Immunological patterns in young children with Down syndrome: is there a temporal trend? *Acta paediatrica (Oslo, Norway : 1992)*. 2007;96(10):1479-82.
31. Barrena MJ, Echaniz P, Garcia-Serrano C, Cuadrado E. Imbalance of the CD4+ subpopulations expressing CD45RA and CD29 antigens in the peripheral blood of adults and children with Down syndrome. *Scandinavian journal of immunology*. 1993;38(4):323-6.
32. Murphy M, Epstein LB. Down syndrome (trisomy 21) thymuses have a decreased proportion of cells expressing high levels of TCR alpha, beta and CD3. A possible mechanism for diminished T cell function in Down syndrome. *Clinical immunology and immunopathology*. 1990;55(3):453-67.
33. Larocca LM, Piantelli M, Valitutti S, Castellino F, Maggiano N, Musiani P. Alterations in thymocyte subpopulations in Down's syndrome (trisomy 21). *Clinical immunology and immunopathology*. 1988;49(2):175-86.
34. Murphy M, Friend DS, Pike-Nobile L, Epstein LB. Tumor necrosis factor-alpha and IFN-gamma expression in human thymus. Localization and overexpression in Down syndrome (trisomy 21). *Journal of immunology*. 1992;149(7):2506-12.
35. Habermehl P, Knuf M, Kampmann C, Mannhardt W, Schranz D, Kuroczynski W, et al. Changes in lymphocyte subsets after cardiac surgery in children. *European journal of pediatrics*. 2003;162(1):15-21.
36. Yamaguchi T, Murakami A, Fukahara K, Ueda T, Ichida F, Miyawaki T, et al. Changes in T-cell receptor subsets after cardiac surgery in children. *Surgery today*. 2000;30(10):875-8.
37. Eysteinsdottir JH, Freysdottir J, Haraldsson A, Stefansdottir J, Skaftadottir I, Helgason H, et al. The influence of partial or total thymectomy during open heart surgery in infants on the immune function later in life. *Clinical and experimental immunology*. 2004;136(2):349-55.

38. Kusters MA, Gemen EF, Verstegen RH, Wever PC, E DEV. Both normal memory counts and decreased naive cells favor intrinsic defect over early senescence of Down syndrome T lymphocytes. *Pediatric research*. 2010;67(5):557-62.
39. Prada N, Nasi M, Troiano L, Roat E, Pinti M, Nemes E, et al. Direct analysis of thymic function in children with Down's syndrome. *Immunity & ageing : I & A*. 2005;2(1):4.
40. Douek DC, McFarland RD, Keiser PH, Gage EA, Massey JM, Haynes BF, et al. Changes in thymic function with age and during the treatment of HIV infection. *Nature*. 1998;396(6712):690-5.
41. Poulin JF, Sylvestre M, Champagne P, Dion ML, Kettaf N, Dumont A, et al. Evidence for adequate thymic function but impaired naive T-cell survival following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in the absence of chronic graft-versus-host disease. *Blood*. 2003;102(13):4600-7.
42. Hazenberg MD, Otto SA, de Pauw ES, Roelofs H, Fibbe WE, Hamann D, et al. T-cell receptor excision circle and T-cell dynamics after allogeneic stem cell transplantation are related to clinical events. *Blood*. 2002;99(9):3449-53.
43. Okamoto Y, Douek DC, McFarland RD, Koup RA. IL-7, the thymus, and naive T cells. *Advances in experimental medicine and biology*. 2002;512:81-90.
44. Cossarizza A, Ortolani C, Paganelli R, Barbieri D, Monti D, Sansoni P, et al. CD45 isoforms expression on CD4+ and CD8+ T cells throughout life, from newborns to centenarians: implications for T cell memory. *Mechanisms of ageing and development*. 1996;86(3):173-95.
45. Sustrova M, Sarikova V. [Down's syndrome--effect of increased gene expression in chromosome 21 on the function of the immune and nervous system]. *Bratislavske lekarske listy*. 1997;98(4):221-8.
46. Lopez V, Ochs HD, Thuline HC, Davis SD, Wedgwood RJ. Defective antibody response to bacteriophage phichi 174 in Down syndrome. *The Journal of pediatrics*. 1975;86(2):207-11.
47. Ugazio AG, Maccario R, Notarangelo LD, Burgio GR. Immunology of Down syndrome: a review. *American journal of medical genetics Supplement*. 1990;7:204-12.
48. Hawkes RA, Philbrook SC, Boughton CR. The response of institutionalized Down's syndrome subjects to enterovirus infections. *The Journal of hygiene*. 1980;84(3):433-41.
49. Li Volti S, Mattina T, Mauro L, Bianca S, Anfuso S, Ursino A, et al. Safety and effectiveness of an acellular pertussis vaccine in subjects with Down's syndrome. *Child's nervous system : ChNS : official journal of the International Society for Pediatric Neurosurgery*. 1996;12(2):100-2.

50. Epstein LB, Philip R. Abnormalities of the immune response to influenza antigen in Down syndrome (trisomy 21). *Progress in clinical and biological research*. 1987;246:163-82.
51. Avanzini MA, Monafo V, De Amici M, Maccario R, Burgio GR, Plebani A, et al. Humoral immunodeficiencies in Down syndrome: serum IgG subclass and antibody response to hepatitis B vaccine. *American journal of medical genetics Supplement*. 1990;7:231-3.
52. Ferreira CT, Leite JC, Taniguchi A, Vieira SM, Pereira-Lima J, da Silveira TR. Immunogenicity and safety of an inactivated hepatitis A vaccine in children with Down syndrome. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 2004;39(4):337-40.
53. Nurmi T, Leinonen M, Haiva VM, Tiilikainen A, Kouvalainen K. Antibody response to pneumococcal vaccine in patients with trisomy-21 (Down's syndrome). *Clinical and experimental immunology*. 1982;48(2):485-90.
54. Costa-Carvalho BT, Martinez RM, Dias AT, Kubo CA, Barros-Nunes P, Leiva L, et al. Antibody response to pneumococcal capsular polysaccharide vaccine in Down syndrome patients. *Brazilian journal of medical and biological research = Revista brasileira de pesquisas medicas e biologicas / Sociedade Brasileira de Biofisica [et al]*. 2006;39(12):1587-92.
55. Chaushu S, Chaushu G, Zigmond M, Yefenof E, Stabholz A, Shapira J, et al. Age-dependent deficiency in saliva and salivary antibodies secretion in Down's syndrome. *Archives of oral biology*. 2007;52(11):1088-96.
56. de Hingh YC, van der Vossen PW, Gemen EF, Mulder AB, Hop WC, Brus F, et al. Intrinsic abnormalities of lymphocyte counts in children with down syndrome. *The Journal of pediatrics*. 2005;147(6):744-7.
57. Zizka Z, Calda P, Fait T, Haakova L, Kvasnicka J, Viskova H. Prenatally diagnosable differences in the cellular immunity of fetuses with Down's and Edwards' syndrome. *Fetal diagnosis and therapy*. 2006;21(6):510-4.
58. Nespoli L, Burgio GR, Ugazio AG, Maccario R. Immunological features of Down's syndrome: a review. *Journal of intellectual disability research : JIDR*. 1993;37 (Pt 6):543-51.
59. Franciotta D, Verri A, Zardini E, Andreoni L, De Amici M, Moratti R, et al. Interferon-gamma- and interleukin-4-producing T cells in Down's syndrome. *Neuroscience letters*. 2006;395(1):67-70.
60. Barradas C, Charlton J, MendoCa P, Lopes AI, Palha M, Trindade JC. IgG subclasses serum concentrations in a population of children with Down syndrome: comparative study with siblings and general population. *Allergologia et immunopathologia*. 2002;30(2):57-61.

61. Chinen J, Rosenblatt HM, Smith EO, Shearer WT, Noroski LM. Long-term assessment of T-cell populations in DiGeorge syndrome. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2003;111(3):573-9.
62. Lavi RF, Kamchaisatian W, Sleasman JW, Martin DP, Haraguchi S, Day NK, et al. Thymic output markers indicate immune dysfunction in DiGeorge syndrome. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2006;118(5):1184-6.
63. Barkin RM, Weston WL, Humbert JR, Maire F. Phagocytic function in Down syndrome--I. Chemotaxis. *Journal of mental deficiency research*. 1980;24 Pt 4:243-9.
64. Khan AJ, Evans HE, Glass L, Skin YH, Almonte D. Defective neutrophil chemotaxis in patients with Down syndrome. *The Journal of pediatrics*. 1975;87(1):87-9.
65. Barkin RM, Weston WL, Humbert JR, Sunada K. Phagocytic function in Down syndrome--II. Bactericidal activity and phagocytosis. *Journal of mental deficiency research*. 1980;24 Pt 4:251-6.
66. Costello C, Webber A. White cell function in Down's syndrome. *Clinical genetics*. 1976;9(6):603-5.
67. Robson AJ, Taylor GM, D'Souza SW. Monoclonal antibodies to CD18 and CD11A (LFA-1) distinguish Down's syndrome (trisomy 21) from normal lymphoblastoid cells. *Disease markers*. 1989;7(3):169-80.
68. Taylor GM, Haigh H, Williams A, D'Souza SW, Harris R. Down's syndrome lymphoid cell lines exhibit increased adhesion due to the over-expression of lymphocyte function-associated antigen (LFA-1). *Immunology*. 1988;64(3):451-6.
69. Barrena MJ, Echaniz P, Garcia-Serrano C, Zubillaga P, Cuadrado E. Differential expression of lymphocyte function-associated antigen (LFA-1) on peripheral blood leucocytes from individuals with Down's syndrome. *Clinical and experimental immunology*. 1992;88(1):41-4.
70. Novo E, Garcia MI, Lavergne J. Nonspecific immunity in Down syndrome: a study of chemotaxis, phagocytosis, oxidative metabolism, and cell surface marker expression of polymorphonuclear cells. *American journal of medical genetics*. 1993;46(4):384-91.
71. Cossarizza A, Ortolani C, Forti E, Montagnani G, Paganelli R, Zannotti M, et al. Age-related expansion of functionally inefficient cells with markers of natural killer activity in Down's syndrome. *Blood*. 1991;77(6):1263-70.
72. Roat E, Prada N, Lugli E, Nasi M, Ferraresi R, Troiano L, et al. Homeostatic cytokines and expansion of regulatory T cells accompany thymic impairment in children with Down syndrome. *Rejuvenation research*. 2008;11(3):573-83.
73. Guazzarotti L, Trabattoni D, Castelletti E, Boldrighini B, Piacentini L, Duca P, et al. T lymphocyte maturation is impaired in healthy young individuals carrying trisomy 21 (Down

syndrome). American journal on intellectual and developmental disabilities. 2009;114(2):100-9.

74. Nisihara RM, Utiyama SR, Oliveira NP, Messias-Reason IJ. Mannan-binding lectin deficiency increases the risk of recurrent infections in children with Down's syndrome. Human immunology. 2010;71(1):63-6.

75. Perez-Padilla R, Fernandez R, Garcia-Sancho C, Franco-Marina F, Aburto O, Lopez-Gatell H, et al. Pandemic (H1N1) 2009 virus and Down syndrome patients. Emerging infectious diseases. 2010;16(8):1312-4.

76. Broers CJ, Gemke RJ, Weijerman ME, van der Sluijs KF, van Furth AM. Increased pro-inflammatory cytokine production in Down Syndrome children upon stimulation with live influenza A virus. Journal of clinical immunology. 2012;32(2):323-9.

77. Broers CJ, Gemke RJ, Morre SA, Weijerman ME, van Furth AM. Increased production of interleukin-10 in children with Down syndrome upon ex vivo stimulation with Streptococcus pneumoniae. Pediatric research. 2014;75(1-1):109-13.

78. van der Poll T, Marchant A, Keogh CV, Goldman M, Lowry SF. Interleukin-10 impairs host defense in murine pneumococcal pneumonia. The Journal of infectious diseases. 1996;174(5):994-1000.

79. Remmelts HH, Meijvis SC, Biesma DH, van Velzen-Blad H, Voorn GP, Grutters JC, et al. Dexamethasone downregulates the systemic cytokine response in patients with community-acquired pneumonia. Clinical and vaccine immunology : CVI. 2012;19(9):1532-8.

80. Martinez R, Menendez R, Reyes S, Polverino E, Cilloniz C, Martinez A, et al. Factors associated with inflammatory cytokine patterns in community-acquired pneumonia. The European respiratory journal. 2011;37(2):393-9.

81. van der Poll T, Keogh CV, Guirao X, Buurman WA, Kopf M, Lowry SF. Interleukin-6 gene-deficient mice show impaired defense against pneumococcal pneumonia. The Journal of infectious diseases. 1997;176(2):439-44.

82. Endeman H, Meijvis SC, Rijkers GT, van Velzen-Blad H, van Moorsel CH, Grutters JC, et al. Systemic cytokine response in patients with community-acquired pneumonia. The European respiratory journal. 2011;37(6):1431-8.

83. Herold S, Tabar TS, Janssen H, Hoegner K, Cabanski M, Lewe-Schlosser P, et al. Exudate macrophages attenuate lung injury by the release of IL-1 receptor antagonist in gram-negative pneumonia. American journal of respiratory and critical care medicine. 2011;183(10):1380-90.

84. Wu CL, Lee YL, Chang KM, Chang GC, King SL, Chiang CD, et al. Bronchoalveolar interleukin-1 beta: a marker of bacterial burden in mechanically ventilated patients with community-acquired pneumonia. Critical care medicine. 2003;31(3):812-7.

85. Arron JR, Winslow MM, Polleri A, Chang CP, Wu H, Gao X, et al. NFAT dysregulation by increased dosage of DSCR1 and DYRK1A on chromosome 21. *Nature*. 2006;441(7093):595-600.
86. Kim YS, Cho KO, Lee HJ, Kim SY, Sato Y, Cho YJ. Down syndrome candidate region 1 increases the stability of the IkappaBalpha protein: implications for its anti-inflammatory effects. *The Journal of biological chemistry*. 2006;281(51):39051-61.
87. Skogberg G, Lundberg V, Lindgren S, Gudmundsdottir J, Sandstrom K, Kampe O, et al. Altered expression of autoimmune regulator in infant down syndrome thymus, a possible contributor to an autoimmune phenotype. *Journal of immunology*. 2014;193(5):2187-95.
88. Cuadrado E, Barrena MJ. Immune dysfunction in Down's syndrome: primary immune deficiency or early senescence of the immune system? *Clinical immunology and immunopathology*. 1996;78(3):209-14.
89. Stabile A, Pesaresi MA, Stabile AM, Pastore M, Sopo SM, Ricci R, et al. Immunodeficiency and plasma zinc levels in children with Down's syndrome: a long-term follow-up of oral zinc supplementation. *Clinical immunology and immunopathology*. 1991;58(2):207-16.
90. Licastro F, Chiricolo M, Mocchegiani E, Fabris N, Zannotti M, Beltrandi E, et al. Oral zinc supplementation in Down's syndrome subjects decreased infections and normalized some humoral and cellular immune parameters. *Journal of intellectual disability research : JIDR*. 1994;38 (Pt 2):149-62.
91. Bertrand P, Navarro H, Caussade S, Holmgren N, Sanchez I. Airway anomalies in children with Down syndrome: endoscopic findings. *Pediatric pulmonology*. 2003;36(2):137-41.
92. Schloo BL, Vawter GF, Reid LM. Down syndrome: patterns of disturbed lung growth. *Human pathology*. 1991;22(9):919-23.
93. Dyken ME, Lin-Dyken DC, Poulton S, Zimmerman MB, Sedars E. Prospective polysomnographic analysis of obstructive sleep apnea in down syndrome. *Archives of pediatrics & adolescent medicine*. 2003;157(7):655-60.
94. Jacobs IN, Gray RF, Todd NW. Upper airway obstruction in children with Down syndrome. *Archives of otolaryngology--head & neck surgery*. 1996;122(9):945-50.
95. Sheikh S, Allen E, Shell R, Hruschak J, Iram D, Castile R, et al. Chronic aspiration without gastroesophageal reflux as a cause of chronic respiratory symptoms in neurologically normal infants. *Chest*. 2001;120(4):1190-5.
96. Frazier JB, Friedman B. Swallow function in children with Down syndrome: a retrospective study. *Developmental medicine and child neurology*. 1996;38(8):695-703.

97. Brumbaugh DE, Accurso FJ. Persistent silent aspiration in a child with Trisomy 21. *Current opinion in pediatrics*. 2002;14(2):231-3.
98. Zarate N, Mearin F, Hidalgo A, Malagelada JR. Prospective evaluation of esophageal motor dysfunction in Down's syndrome. *The American journal of gastroenterology*. 2001;96(6):1718-24.
99. Strome M. Down's syndrome: a modern otorhinolaryngological perspective. *The Laryngoscope*. 1981;91(10):1581-94.
100. Shibahara Y, Sando I. Congenital anomalies of the eustachian tube in Down syndrome. Histopathologic case report. *The Annals of otology, rhinology, and laryngology*. 1989;98(7 Pt 1):543-7.
101. Balkany TJ, Mischke RE, Downs MP, Jafek BW. Ossicular abnormalities in Down's syndrome. *Otolaryngology and head and neck surgery*. 1979;87(3):372-84.
102. Bloemers BL, Broers CJ, Bont L, Weijerman ME, Gemke RJ, van Furth AM. Increased risk of respiratory tract infections in children with Down syndrome: the consequence of an altered immune system. *Microbes and infection / Institut Pasteur*. 2010;12(11):799-808.
103. Franceschi C, Monti D, Sansoni P, Cossarizza A. The immunology of exceptional individuals: the lesson of centenarians. *Immunology today*. 1995;16(1):12-6.
104. Fagnoni FF, Vescovini R, Passeri G, Bologna G, Pedrazzoni M, Lavagetto G, et al. Shortage of circulating naive CD8(+) T cells provides new insights on immunodeficiency in aging. *Blood*. 2000;95(9):2860-8.
105. Aspinall R, Andrew D. Thymic involution in aging. *Journal of clinical immunology*. 2000;20(4):250-6.
106. Franceschi C, Monti D, Cossarizza A, Tomasi A, Sola P, Zannotti M. Oxidative stress, poly(ADP)ribosylation and aging: in vitro studies on lymphocytes from normal and Down's syndrome subjects of different age and from patients with Alzheimer's dementia. *Advances in experimental medicine and biology*. 1990;264:499-502.
107. Noble RL, Warren RP. Altered T-cell subsets and defective T-cell function in young children with Down syndrome (trisomy-21). *Immunological investigations*. 1987;16(5):371-82.
108. Park E, Alberti J, Mehta P, Dalton A, Sersen E, Schuller-Levis G. Partial impairment of immune functions in peripheral blood leukocytes from aged men with Down's syndrome. *Clinical immunology (Orlando, Fla)*. 2000;95(1 Pt 1):62-9.
109. Lin SJ, Wang JY, Klickstein LB, Chuang KP, Chen JY, Lee JF, et al. Lack of age-associated LFA-1 up-regulation and impaired ICAM-1 binding in lymphocytes from patients with Down syndrome. *Clinical and experimental immunology*. 2001;126(1):54-63.

110. Kusters MA, Verstegen RH, de Vries E. Down syndrome: is it really characterized by precocious immunosenescence? *Aging and disease*. 2011;2(6):538-45.
111. Menendez R, Sahuquillo-Arce JM, Reyes S, Martinez R, Polverino E, Cilloniz C, et al. Cytokine activation patterns and biomarkers are influenced by microorganisms in community-acquired pneumonia. *Chest*. 2012;141(6):1537-45.
112. Netea MG, Wijmenga C, O'Neill LA. Genetic variation in Toll-like receptors and disease susceptibility. *Nature immunology*. 2012;13(6):535-42.
113. Ram G, Chinen J. Infections and immunodeficiency in Down syndrome. *Clinical and experimental immunology*. 2011;164(1):9-16.
114. Roberts I, O'Connor D, Roy A, Cowan G, Vyas P. The impact of trisomy 21 on foetal haematopoiesis. *Blood cells, molecules & diseases*. 2013;51(4):277-81.
115. Lange B. The management of neoplastic disorders of haematopoiesis in children with Down's syndrome. *British journal of haematology*. 2000;110(3):512-24.